

**XP-002205591**

**AN - 1986-262896 [40]**

**AP - JP19850032527 19850220; JP19850032527 19850220**

**CPY - NIGA**

**DC - B04 D16**

**FS - CPI**

**IC - C12P1/00 ; C12P7/06**

**MC - B11-A D05-A**

**M1 - [01] M423 M781 M903 N132 Q233 V500 V550 V780**

**PA - (NIGA ) NGK INSULATORS LTD**

**PN - JP61192291 A 19860826 DW198640 004pp**

**- JP3070475B B 19911107 DW199149 000pp**

**PR - JP19850032527 19850220**

**XA - C1986-113909**

**XIC - C12P-001/00 ; C12P-007/06**

**AB - J61192291 In the fermentation, fermentation raw materials are brought into contact with a microbial mycelium which is immobilised with an oil (II) in a carrier. The fermentation broth is kept in contact with an extn. solvent in the presence of (II).**

**- (II) is e.g. castor oil, olive oil, soy bean oil and rapeseed oil.**

**- ADVANTAGE - Fermentation is combined with simultaneous extn. of elaborated organic prod. with an extn. solvent. In order to keep the activity of the mycelium high the removal prod. is removed from the fermentation system. The presence of (II) in the immobilised microbial mycelium and in the fermentation broth accelerates extn. and prevents the extn. solvent from being distributed into the broth. (4pp Dwg.No.0/0)**

**IW - FERMENTATION CONTINUOUS PRODUCT EXTRACT MICROBE MYCELIUM IMMOBILISE OIL PREVENT EXTRACT-SOLVENT DISTRIBUTE FERMENTATION BROTH**

**IKW - FERMENTATION CONTINUOUS PRODUCT EXTRACT MICROBE MYCELIUM IMMOBILISE OIL PREVENT EXTRACT SOLVENT DISTRIBUTE FERMENTATION BROTH**

**NC - 001**

**OPD - 1985-02-20**

**ORD - 1986-08-26**

**PAW - (NIGA ) NGK INSULATORS LTD**

**TI - Fermentation with continuous prod. extn. - uses microbial mycelium immobilised with oil to prevent extn. solvent distribution in fermentation broth**

⑩ 日本国特許庁(JP)

⑪ 特許出願公開

⑫ 公開特許公報(A)

昭61-192291

⑬ Int.Cl.<sup>4</sup>

識別記号

庁内整理番号

⑭ 公開 昭和61年(1986)8月26日

C 12 P

1/00  
7/06

6760-4B

8213-4B

審査請求 未請求 発明の数 1 (全4頁)

⑮ 発明の名称 抽出発酵法

⑯ 特 願 昭60-32527

⑰ 出 願 昭60(1985)2月20日

⑱ 発 明 者	小 林	猛	名古屋市千種区下方町4丁目29番地
⑱ 発 明 者	田 谷	正 仁	名古屋市千種区北千種1丁目9番7号
⑱ 発 明 者	川 瀬	三 雄	名古屋市緑区鳴海町姥子山22番地の1
⑲ 出 願 人	日本碍子株式会社		名古屋市瑞穂区須田町2番56号
⑲ 代 理 人	弁理士 名嶋 明郎		外1名

明 細 書

1. 発明の名称 抽出発酵法

2. 特許請求の範囲

1、発酵槽内で原料と菌体とを接触させ、得られた発酵液に抽剤を添加し代謝産物である有機物を抽剤相に抽出して回収する抽出発酵法において、上記菌体が油とともに担体中に固定化されたものであり、発酵液及び抽剤と菌体との接触が油の存在下において行われることを特徴とする抽出発酵法。

2、油がひまし油、オリーブ油、大豆油、なたね油等の天然油である特許請求の範囲第1項記載の抽出発酵法。

3. 発明の詳細な説明

(産業上の利用分野)

本発明は原料と菌体とを接触させて発酵させ、発酵液中に抽剤を添加して代謝産物を抽剤相に抽出して回収する抽出発酵法の改良に関するものである。

(従来の技術)

グルコース等の原料を乳糖発酵性酵母、アルコール発酵性酵母等の菌体と接触させて発酵させ、エタノール等の代謝産物を工業的に得る工程においては、発酵液中の代謝産物濃度が高まると菌体の活性が低下し、エタノール等の生産性が阻害されることが知られている。そこで生成された代謝産物を発酵槽内から速やかに除去するために発酵液中に抽剤を添加し、代謝産物を抽剤相に抽出させることにより発酵槽内の代謝産物濃度を常に低く保ち、菌体の活性低下を防ぐ抽出発酵法が発明され、例えば特公昭58-3677号として提案されている。ところが抽出効率の大きい抽剤、即ち抽剤中の代謝産物濃度(kg/kg)/発酵液中の代謝産物濃度(kg/kg)として定義される分配係数mの大きい抽剤は菌体に対する毒性が強く菌体の生産性を著しく低下させるため、止むを得ず分配係数mが小さく菌体に対する毒性も小さいノルマルデシルアルコール(m=0.39)、オイレルアルコール(m=0.24)、ノルマルドデシルアルコール(m=0.37)等が抽剤として使用されて

データは次の実施例に示す。

#### 実施例

菌体として前述の細胞融合株PN13とサッカロミセス・セレビシエ協会7号を用い、これらの菌株をそれぞれ最小培地（ラクトース10kg/m<sup>3</sup>）及びYM培地（グルコース10kg/m<sup>3</sup>）で培養して菌体懸濁液を得た。これらの2種類の菌体懸濁液10%に対して10%のてんぷら油（大豆油+なたね油）を添加したもの、同量のオリーブ油を添加したもの、同量のひまし油を添加したものの計6種類の混合液を調製し、各混合液をそれぞれアルギン酸ナトリウム2%、酸化アルミナ10%と混合したうえ2%CaCl<sub>2</sub>・2H<sub>2</sub>O水溶液中に滴下して菌体固定化ビーズとした。これら6種類の菌体固定化ビーズをYM培養（ラクトース又はグルコース50kg/m<sup>3</sup>、CaCl<sub>2</sub> 5kg/m<sup>3</sup>）で2～3日間活性化したのち、第1図に示す発酵槽(11)に入れ、10kg/m<sup>3</sup>のラクトースと10kg/m<sup>3</sup>のグルコース原料を供給して24～29時間発酵を行わせた。一方、抽剤としてはOIPP（m=

1.5）とOTBP（m=1.6）を用い、エタノール生産量を測定した。その結果を第1表に示す。

第1表に示されるように、菌体として細胞融合株PN13を使用したとき抽剤としてOIPPを用いると、油を用いない従来法においてはエタノール生産量が3.6から0.5まで低下するが、油を用いた本発明法においてはエタノール生産量が1.2～1.5まで回復することが分かる。また、抽剤としてOTBPを用いると従来法においてはエタノール生産量が3.6から0.2まで低下するが、本発明によれば2.8～3.3まで回復することが分かる。菌体としてサッカロミセス・セレビシエ協会7号を使用した場合にも同じ効果が認められる。次に油の含有率と本発明との関係を明らかにするため、菌体固定化ビーズ中のひまし油の含有量を変化させて同様の試験を行った。その結果を第2表に示す。第2表から明らかなように、ひまし油の含有率が5%を超えると、エタノール生産量の顕著な回復が認められる。

7

8

第1表

		エタノール生産量 kg/m <sup>3</sup>					
菌 体	抽 剤	PN13			協会7号		
		なし	OIPP	OTBP	なし	OIPP	OTBP
油	てんぷら油	3.1	1.2	3.3	4.4	0.9	3.7
	オリーブ油	3.4	1.2	2.8	4.6	0.5	3.8
	ひまし油	3.4	1.5	3.0	4.4	0.9	4.2
	なし	3.6	0.5	0.2	4.4	0.05	0.1

第2表

		エタノール生産量 kg/m <sup>3</sup>					
菌 体	抽 剤	ひまし油 含有率			体積%		
		0	5	7.5	10	15	20
PN13	なし	4.1	4.5	4.9	4.1	4.6	4.7
	OTBP	0.6	1.7	1.8	3.4	3.7	4.1
協会7号	なし	4.5	4.5	4.6	4.8	4.7	4.8
	OTBP	0.2	4.0	4.7	4.3	4.7	4.6

#### （発明の効果）

本発明は以上の説明からも明らかなように、菌体を油とともに担体中に固定して発酵液及び抽剤と菌体との接触を油の存在下で行わせることによりOIPPやOTBPのような分配係数の大きい抽剤が菌体に及ぼす毒性を緩和し、高効率でエタノール等の代謝産物の生産を行わせることに成功したものである。よって本発明によれば分配係数が大で代謝産物の回収が容易な抽剤を用いた抽出発酵プロセスが実現でき、産業の発展に寄与するところは極めて大きいものがある。

#### 4. 図面の簡単な説明

第1図及び第2図は本発明の抽出発酵法を示すフローシートである。

(11)、(21)：発酵槽、(13)、(22)：抽出タンク

**THOMSON**  
DELPHION

RESEARCH

PRODUCTS

INSIDE DELPHION

[Log Out](#) | [Work Files](#) | [Saved Searches](#) | [My Account](#) | [Products](#)

Search: [Quick/Number](#) [Boolean](#) [Advanced](#)

## The Delphion Integrated View

Get Now: ☒ PDF | [More choices...](#)
Tools: Add to Work File: [Create new Wo](#)

View: INPADOC | Jump to:  Go to: [Derwent...](#) [Ema](#)

Title: **JP61192291A2: METHOD OF EXTRACTIVE FERMENTATION**

Country: **JP Japan**

Kind: **A**

Inventor: **KOBAYASHI TAKESHI;  
TAYA MASAHIRO;  
KAWASE MITSUO;**

Assignee: **NGK INSULATORS LTD**  
[News, Profiles, Stocks and More about this company](#)

Published / Filed: **1986-08-26 / 1985-02-20**

Application Number: **JP1985000032527**

IPC Code: **C12P 1/00; C12P 7/06;**

Priority Number: **1985-02-20 JP1985000032527**

Abstract:

PURPOSE: To make an extracting agent having a large partition coefficient usable without damaging productivity of mold and to obtain an intermediate in high efficiency, by immobilizing a mold and an oil to a carrier, and bringing a fermentation solution and an extracting agent into contact with the carrier in the presence of an oil.

CONSTITUTION: In an extractive fermentation method wherein a raw material is brought into contact with a mold, an extracting agent is added to the prepared fermentation solution, and an intermediate is extracted with the extracting agent, the mold and an oil (preferably castor oil, olive oil, soybean oil, colza oil, etc.) are immobilized to a carrier, and a fermentation solution and the extracting agent are brought into contact with the carrier in the presence of an oil.

COPYRIGHT: (C)1986,JPO&Japio

INPADOC: None [Get Now: Family Legal Status Report](#)

Legal Status: [Show 4 known family members](#)

Other Abstract Info: **DERABS C86-262896 DERC86-262896**



[Nominate](#)

[this for the Gallery...](#)

## ⑫ 公開特許公報(A)

昭61-192291

⑤ Int. Cl.<sup>4</sup>

識別記号

庁内整理番号

④ 公開 昭和61年(1986)8月26日

C 12 P 1/00  
7/066760-4B  
8213-4B

審査請求 未請求 発明の数 1 (全4頁)

⑭ 発明の名称 抽出発酵法

⑰ 特 願 昭60-32527

⑱ 出 願 昭60(1985)2月20日

⑲ 発 明 者	小 林 猛	名古屋市千種区下方町4丁目29番地
⑲ 発 明 者	田 谷 正 仁	名古屋市千種区北千種1丁目9番7号
⑲ 発 明 者	川 瀬 三 雄	名古屋市緑区鳴海町姥子山22番地の1
⑰ 出 願 人	日本碍子株式会社	名古屋市瑞穂区須田町2番56号
⑱ 代 理 人	弁理士 名嶋 明郎	外1名

## 明 細 書

## 1. 発明の名称 抽出発酵法

## 2. 特許請求の範囲

1、発酵槽内で原料と菌体とを接触させ、得られた発酵液に抽剤を添加し代謝産物である有機物を抽剤相に抽出して回収する抽出発酵法において、上記菌体が油とともに担体中に固定化されたものであり、発酵液及び抽剤と菌体との接触が油の存在下において行われることを特徴とする抽出発酵法。

2、油がひまし油、オリーブ油、大豆油、なたね油等の天然油である特許請求の範囲第1項記載の抽出発酵法。

## 3. 発明の詳細な説明

(産業上の利用分野)

本発明は原料と菌体とを接触させて発酵させ、発酵液中に抽剤を添加して代謝産物を抽剤相に抽出して回収する抽出発酵法の改良に関するものである。

(従来 of 技術)

グルコース等の原料を乳糖発酵性酵母、アルコール発酵性酵母等の菌体と接触させて発酵させ、エタノール等の代謝産物を工業的に得る工程においては、発酵液中の代謝産物濃度が高まると菌体の活性が低下し、エタノール等の生産性が阻害されることが知られている。そこで生成された代謝産物を発酵槽内から速やかに除去するために発酵液中に抽剤を添加し、代謝産物を抽剤相に抽出させることにより発酵槽内の代謝産物濃度を常に低く保ち、菌体の活性低下を防ぐ抽出発酵法が発明され、例えば特公昭58-3677号として提案されている。ところが抽出効率の大きい抽剤、即ち抽剤中の代謝産物濃度(kg/kg)/発酵液中の代謝産物濃度(kg/kg)として定義される分配係数mの大きい抽剤は菌体に対する毒性が強く菌体の生産性を著しく低下させるため、止むを得ず分配係数mが小さく、菌体に対する毒性も小さいノルマルデシルアルコール(m=0.39)、オイレルアルコール(m=0.24)、ノルマルドデシルアルコール(m=0.37)等が抽剤として使用されて

おり、この場合には抽出効率が悪いために抽剤からの代謝産物の回収に大きいエネルギーを必要とするという問題が残されていた。

(発明が解決しようとする問題点)

本発明はこのような従来の問題点を解決し、菌体の生産性を阻害することなく分配係数の大きい抽剤を使用することができ、高効率で代謝産物を得ることができる抽出発酵法を目的として完成されたものである。

(問題点を解決するための手段)

本発明は発酵槽内で原料と菌体とを接触させ、得られた発酵液に抽剤を添加し代謝産物である有機物を抽剤相に抽出して回収する抽出発酵法において、上記菌体が油とともに担体中に固定化されたものであり、発酵液及び抽剤と菌体との接触が油の存在下において行われることを特徴とするものである。

本発明において用いられる菌体としては、先に本発明者等が細胞融合法により造成した乳糖発酵性酵母である細胞融合株 P N 1 3 (K l u y v o

r o m y c e s l a c t i s T 3 9 6) や、代表的なアルコール発酵性酵母であるサッカロミセス・セレビシエ (S a c c h a r o m y c e s c e r e v i s i a e) 協会 7 号等の種々の菌体を広く用いることができ、このほかのサッカロミセス属やシゾサッカロミセス属、クルイベロミセス属等の酵母や、ザイモモナス属、クロストリディウム属等の細菌を用いることもできる。これらの菌体は菌体濃度 2 % (体積 % 以下同じ) 以上、好ましくは 1 0 % 以上の菌体培養液とされ例えば固定化用溶液であるアルギン酸ナトリウム 2 %、酸化アルミナ 1 0 % の水溶液に油とともに混合されエマルジョン化される。本発明において用いられる油は溶剤の毒性から菌体を保護する目的で用いられるもので、それ自体が菌体に対して毒性を持たないこと、非水溶性であること、常温において液状であること等の条件を満足するものであればよいが、更に炭素数が 1 8 以上であること、不飽和結合を持たないこと、天然油であることが望ましい。炭素数が 1 8 未満の油は菌体に対して

3

毒性を示し、不飽和結合を持つ油は使用中に不飽和部位が酸化されて物性に変化を生ずる虞れがあるためである。これらの条件を満足する油としては、例えばひまし油、オリーブ油、大豆油、ヤシ油、なたね油等の植物油を挙げることができ、このような油は固定化用溶液に対して 2 % 以上、好ましくは 5 % 以上が添加される。次に菌体培養液と油と固定化用溶液とのエマルジョンは例えば C a C l <sub>2</sub> · 2 H <sub>2</sub> O の 2 % 水溶液である固定化液中に滴下され、粒径が 1 ~ 2 mm 程度の寒天状の菌体固定化ビーズとされる。このようにして得られた菌体固定化ビーズは油の粒子と菌体とが至近距離にあるよう担体中に固定されたものであり、例えば第 1 図に示される発酵槽 (11) 又は第 2 図に示される発酵槽 (21) 中に充填される。第 1 図に示される発酵法においてはグルコース等の原料が原料供給管 (12) から発酵槽 (11) 内へ供給されるとともに抽出タンク (13) から抽剤が抽剤供給管 (14) を経て発酵槽 (11) 中に供給され、発酵液と抽剤との混合液は排出管 (15) により分離槽 (16) へ送られて発酵

4

液と抽剤に分離される。この間に代謝産物であるエタノールは抽剤中に抽出され、抽出タンク (13) において代謝産物が抽剤と分離されて管 (17) から取出される。また、第 2 図に示される発酵法においては菌体固定化ビーズは発酵槽 (21) の下部に充填され、抽出タンク (22) から抽剤供給管 (23) により供給される抽剤は発酵槽 (21) の上部を流れつつ発酵により生じた代謝産物を抽出し、抽出タンク (22) へ戻る。いずれの方法による場合にも原料及び抽剤は菌体固定化ビーズ中に浸透して菌体と接触することとなるが、本発明においてはこの接触が油の存在下において行われ、油が菌体に対する抽剤の毒性を著しく低下させるためにオルトイソプロピルフェノール (以下、O I P P と記す) やオルトターシャリーブチルフェノール (以下、O T B P と記す) のような分配係数の高い抽剤を用いても菌体の生産性低下をごくわずかにとどめることができる。従って本発明によれば菌体の生産性を阻害することなく分配係数の大きい抽剤が使用できることとなるが、その詳細な実験

5

6

データは次の実施例に示す。

#### 実施例

菌体として前述の細胞融合株PN13とサッカロミセス・セレビシエ協会7号を用い、これらの菌株をそれぞれ最小培地（ラクトース10kg/m<sup>3</sup>）及びYM培地（グルコース10kg/m<sup>3</sup>）で培養して菌体懸濁液を得た。これらの2種類の菌体懸濁液10%に対して10%のてんぷら油（大豆油＋なたね油）を添加したもの、同量のオリーブ油を添加したもの、同量のひまし油を添加したものの計6種類の混合液を調製し、各混合液をそれぞれアルギン酸ナトリウム2%、酸化アルミナ10%と混合したうえ2%CaCl<sub>2</sub>・2H<sub>2</sub>O水溶液中に滴下して菌体固定化ビーズとした。これら6種類の菌体固定化ビーズをYM培養（ラクトース又はグルコース50kg/m<sup>3</sup>、CaCl<sub>2</sub>5kg/m<sup>3</sup>）で2～3日間活性化したのち、第1図に示す発酵槽(11)に入れ、10kg/m<sup>3</sup>のラクトースと10kg/m<sup>3</sup>のグルコース原料を供給して24～29時間発酵を行わせた。一方、抽剤としてはOIPP（m＝

1.5）とOTBP（m＝1.6）を用い、エタノール生産量を測定した。その結果を第1表に示す。

第1表に示されるように、菌体として細胞融合株PN13を使用したとき抽剤としてOIPPを用いると、油を用いない従来法においてはエタノール生産量が3.6から0.5まで低下するが、油を用いた本発明法においてはエタノール生産量が1.2～1.5まで回復することが分かる。また、抽剤としてOTBPを用いると従来法においてはエタノール生産量が3.6から0.2まで低下するが、本発明によれば2.8～3.3まで回復することが分かる。菌体としてサッカロミセス・セレビシエ協会7号を使用した場合にも同じ効果が認められる。次に油の含有率と本発明との関係を明らかにするため、菌体固定化ビーズ中のひまし油の含有量を変化させて同様の試験を行った。その結果を第2表に示す。第2表から明らかなように、ひまし油の含有率が5%を越え、エタノール生産量の顕著な回復が認められる。

7

8

第1表

		エタノール生産量 kg/m <sup>3</sup>					
菌 体		PN13			協会7号		
抽 剤		なし	OIPP	OTBP	なし	OIPP	OTBP
油	てんぷら油	3.1	1.2	3.3	4.4	0.9	3.7
	オリーブ油	3.4	1.2	2.8	4.6	0.5	3.8
	ひまし油	3.4	1.5	3.0	4.4	0.9	4.2
	なし	3.6	0.5	0.2	4.4	0.05	0.1

第2表

		エタノール生産量 kg/m <sup>3</sup>					
菌 体	抽剤	ひまし油 含有率		体積%			
		0	5	7.5	10	15	20
PN13	なし	4.1	4.5	4.9	4.1	4.6	4.7
	OTBP	0.6	1.7	1.8	3.4	3.7	4.1
協会7号	なし	4.5	4.5	4.6	4.8	4.7	4.8
	OTBP	0.2	4.0	4.7	4.3	4.7	4.6

#### （発明の効果）

本発明は以上の説明からも明らかなように、菌体を油とともに担体中に固定して発酵液及び抽剤と菌体との接触を油の存在下で行わせることによりOIPPやOTBPのような分配係数の大きい抽剤が菌体に及ぼす毒性を緩和し、高効率でエタノール等の代謝産物の生産を行わせることに成功したものである。よって本発明によれば分配係数が大で代謝産物の回収が容易な抽剤を用いた抽出発酵プロセスが実現でき、産業の発展に寄与するところは極めて大きいものがある。

#### 4. 図面の簡単な説明

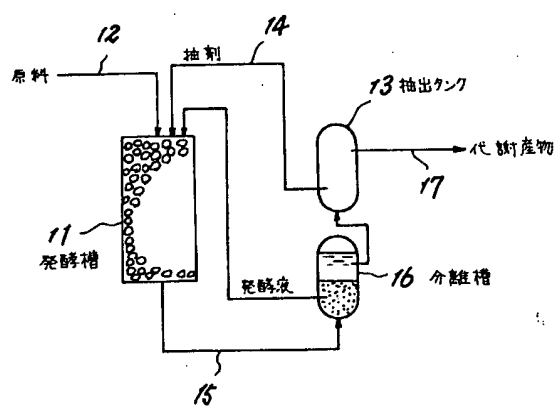
第1図及び第2図は本発明の抽出発酵法を示すフローシートである。

(11)、(21): 発酵槽、(13)、(22): 抽出タンク

9

10

第 1 図



第 2 図

